



PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP KLOROFIL DAN SENYAWA FITOKIMIA DAUN KIAMBANG (*Salvinia molesta* Mitchell) DARI PERAIRAN RAWA

Yaya Ernaini¹, Agus Supriadi², Rinto²

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Universitas Sriwijaya

ABSTRAC

The objective of this research was to know effect of solvent (NaHCO_3 0,5% and MgCO_3 0,03%) and Tween 80 (0,5%, 1%, and 1,5%) to obtain the chlorophyll and phytochemical compounds of kiambang leaves. The research used factorial randomized block design with two treatments and each treatment was replicated three times. The treatments were the type of solvent (NaHCO_3 0.5% and MgCO_3 0.03%) and the concentration of Tween 80 (0.5%, 1% and 1.5%). The parameters of research were total chlorophyll content, water dissolve chlorophyll, phytochemical, colour intensity (Hunter a, Hunter b, and Lightness), and colour stability. The result showed that the average of total chlorophyll ranges from 10.261 mg/L to 16.435 mg/L, water dissolve chlorophyll ranges from 4.503 mg/L to 5.739 mg/L, Hunter a ranges from -2.8 to -4.667, Hunter b ranges from +6.1 to +14.6, Lightness ranges from 29.4 to 34.067. Phytochemical compounds of kiambang leaves were alkaloid, fenol, and saponin. The colour stability test of kiambang leaves by using NaHCO_3 0.5% and Tween 80 1.5% indicated the best colour stability during four weeks storage in aerobic condition.

Keyword : Kiambang, Extract, Chlorophyll, Phytochemical

1. Pendahuluan

Tanaman secara umum terbagi dua yaitu tanaman tingkat tinggi dan tanaman tingkat rendah. Tanaman tingkat tinggi terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Sedangkan tanaman tingkat rendah hanya memiliki beberapa dari bagian tanaman tingkat tinggi, salah satu contohnya adalah kiambang. Bagian-bagian tumbuhan ini telah diketahui mengandung komponen fitokimia. Fitokimia merupakan senyawa kimia yang bersifat aktif yang dihasilkan oleh tumbuhan. Kandungan senyawa fitokimia yang terdapat dalam suatu tanaman akan mempengaruhi manfaat tanaman tersebut (Rozak dan Hartanto, 2008). Fitokimia banyak digunakan sebagai zat warna, aroma makanan, serta obat-obatan. Salah satu senyawa fitokimia ialah klorofil.

Kiambang (*Salvinia molesta* Mitchell) merupakan tumbuhan rawa yang ketersediaannya melimpah, khususnya di perairan rawa Sumatera Selatan. Tumbuhan ini tidak memiliki nilai ekonomi tinggi, kecuali sebagai sumber humus. Kiambang dapat menyebabkan *blooming* yaitu tumbuh sangat rapat sampai menutupi permukaan sungai atau danau. Daun kiambang berwarna hijau mengandung klorofil. Kandungan klorofil pada tumbuh-tumbuhan memiliki jumlah yang banyak yaitu rata-rata 1% berat kering, sehingga sangat berpotensi dikembangkan sebagai suplemen pangan, pewarna alami, dan kegunaan lainnya.

Klorofil adalah pigmen utama berwarna hijau pada tumbuhan, memiliki struktur mirip dengan hemoglobin (pigmen pada darah manusia), dimana atom sentral Fe^{2+} pada darah diganti dengan Mg^{2+} pada klorofil. Klorofil merupakan senyawa yang tidak stabil dan sangat peka terhadap cahaya sehingga sulit untuk menjaga agar molekulnya tetap utuh dengan warna hijau yang sangat menarik (Hutajulu *et al.*, 2008). Selain itu, klorofil juga peka terhadap panas, oksigen dan degradasi kimia. Degradasi klorofil pada jaringan sayuran dipengaruhi oleh pH. Pada media basa, kondisi klorofil lebih stabil, sehingga dapat menekan reaksi pembentukan feofitin yang berwarna hijau kecoklatan (Manurung, 2011). Senyawa fitokimia

dan klorofil dapat diperoleh melalui proses pelarutan menggunakan pelarut (Harborne, 1996 dalam Afrisandy, 2008).

Pelarut merupakan zat yang jumlahnya lebih banyak daripada zat-zat lain dalam suatu campuran homogen. Larutan NaHCO_3 dan MgCO_3 merupakan garam yang bersifat basa. Kondisi basa biasa diterapkan pada proses blansir sayuran berdaun hijau untuk mencegah degradasi klorofil menjadi feofitin yang berwarna hijau kecoklatan. Berdasarkan penelitian Prangdimurti (2007), penggunaan NaHCO_3 0,5% dapat meningkatkan kadar klorofil pada daun suji. Selain itu, berdasarkan penelitian Hutajulu *et al.* (2008) menunjukkan bahwa penggunaan MgCO_3 0,03% dapat mempertahankan warna hijau klorofil daun suji.

Proses pelarutan klorofil dipermudah dengan bantuan deterjen. Penggunaan Tween 80, yang termasuk deterjen non ionik, dalam proses pelarutan klorofil dapat menekan pembentukan feofitin. Selain itu, penggunaan Tween 80 dapat mempermudah kontak antara klorofil dengan enzim klorofilase. Enzim klorofilase bekerja menghidrolisis gugus fitol klorofil sehingga mengubahnya menjadi klorofilid yang larut air (Prangdimurti, 2007). Berdasarkan uraian tersebut dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan klorofil dan senyawa fitokimia lain yang terdapat pada daun kiambang.

2. Metode Penelitian

2.1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 1) Kiambang (*Salvinia molesta* Mitchell) diambil di danau UNSRI, Indralaya, Kabupaten Ogan Ilir, 2) Magnesium karbonat (MgCO_3), 3) Natrium bikarbonat (NaHCO_3), 4) Tween 80, 5) Aquades, 6) Pereaksi Fitokimia: Asam sulfat 2N, iodine, kalium iodida, aquades, kloroform, anhidrida asetat, asam sulfat pekat, air panas, asam klorida 2N, besi klorida 5%, 7) bahan kimia untuk analisis kadar klorofil: aseton 99,5%, petroleum eter, air deionisasi.

Alat yang digunakan adalah: 1) blender, 2) inkubator, 3) timbangan analitik, 4) ayakan, 5) baskom *stainless* 6) *mini water bath*, 7) botol, 8) kain kasa, 9) pipet tetes, 10) labu ukur, 11) beker gelas, 12) Erlenmeyer, 13) pipet volume, 14) tabung reaksi, 15) *Spektrofotometer*, 16) *vortex mixer*, dan 17) *Colour reader* CR-10

2.2. Prosedur

Cara kerja dalam penelitian dilakukan dengan menggunakan metode Prangdimurti (2007) yang telah dimodifikasi. Bahan baku (kiambang) yang diperlukan diambil dicuci bersih lalu ditiriskan. Selanjutnya bahan baku dicelupkan (*blanching*) dalam air mendidih selama 45 detik. Kemudian sampel didinginkan dengan air mengalir menggunakan wadah berupa saringan sehingga air langsung terbuang untuk menghentikan proses inaktivasi enzim saat *blanching*. Kemudian bahan baku dikering-anginkan.

Berikutnya dilakukan pembuatan larutan yang akan digunakan untuk melarutkan daun kiambang dengan cara NaHCO_3 0,5 gram dan MgCO_3 0,03% dilarutkan ke dalam larutan Tween 80 dengan konsentrasi (0,5%, 1%, 1,5%). Kiambang yang telah dipersiapkan kemudian ditambahkan dengan larutan tersebut (1:10 b/v) lalu dihancurkan menggunakan blender. Kemudian diinkubasi pada suhu 70-75 °C selama 60 menit. Setelah diinkubasi dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain kasa untuk membuat ampas, kemudian klorofil daun kiambang disimpan dalam botol gelap

Parameter yang diamati meliputi kadar total klorofil ekstrak, kadar klorofil larut air, senyawa fitokimia (alkaloid, steroid, triterpenoid, fenol, tanin, dan saponin), intensitas warna, dan kestabilan warna selama penyimpanan

2.3. Statistik

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF) dengan dua faktor perlakuan yaitu jenis pelarut (dua taraf) dan konsentrasi Tween 80 (tiga taraf). Percobaan ini diulang sebanyak 3 kali dengan ulangan sebagai kelompok. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

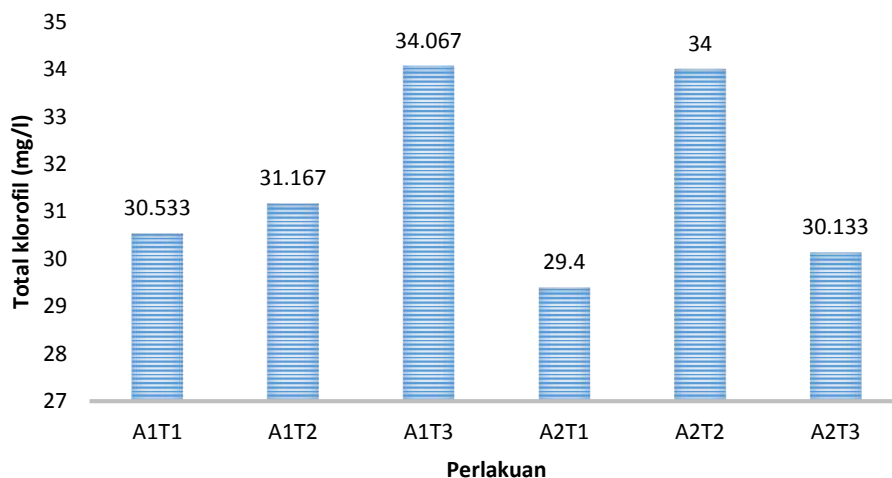
1. Jenis Pelarut (A)
 - A₁ : Natrium Bikarbonat (NaHCO₃) 0,5 %
 - A₂ : Magnesium Karbonat (MgCO₃) 0,03%
2. Konsentrasi Tween 80 (T)
 - T₁ = Tween 80 0,5%
 - T₂ = Tween 80 1%
 - T₃ = Tween 80 1,5%

Data yang diperoleh diolah menggunakan statistik parametrik dengan Rancangan Acak Kelompok Faktorial yang dianalisis dengan keragaman (Ansira 5%) dan dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kadar total klorofil

Klorofil adalah pigmen utama warna hijau pada tumbuhan, memiliki struktur mirip dengan haemoglobin (pigmen pada darah manusia), dimana atom sentral Fe²⁺ pada haemoglobin diganti dengan Mg²⁺ pada klorofil (Eskin 1979 *dalam* Hutajulu 2008). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata-rata kadar total klorofil ekstrak kiambang tertinggi adalah pada perlakuan A1T3 yaitu sebesar 16,435 mg/L dan yang terendah pada perlakuan A2T1 sebesar 10,261 mg/L. Tanaman kiambang memiliki kadar total klorofil yang hampir sama dengan tanaman mata lele yang memiliki kadar total klorofil sebesar 17,866 mg/L. Namun, kadar total klorofil tanaman kiambang terlalu kecil dibandingkan tanaman suji yang memiliki kadar total klorofil sebesar 3.773,9 mg/L. Hasil rata-rata kadar total klorofil dari semua perlakuan disajikan pada Gambar 1.



Keterangan: A1T1= NaHCO₃0.5% dan Tween 80 0.5% , A1T2= NaHCO₃0.5% dan Tween 80 1%, A1T3= NaHCO₃0.5% dan Tween 80 1.5% , A2T1= MgCO₃ 0.03% dan Tween 80 0.5%, A2T2= MgCO₃ 0.03% dan Tween 80 1%, A2T3= MgCO₃ 0.03% dan Tween 80 1.5%

Gambar 1. Histogram Nilai Rata- Rata Kadar Total Klorofil Ekstrak Kiambang

Hasil analisis keragaman kadar total klorofil daun kiambang menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap kadar total klorofil. Hal ini diduga NaHCO_3 dan MgCO_3 cenderung bersifat basa sehingga mampu menekan reaksi pembentukan feofitin, sesuai dengan yang dikemukakan oleh Fennema (1996) *dalam* Manurung (2011) penambahan garam seperti sodium, magnesium, atau kalsium menurunkan feofitinisasi, karena terjadi pelapisan elektrostatis dari garam. Selain itu, dengan adanya penggunaan Tween 80 pada proses pelarutan dapat membantu peningkatan kadar total klorofil dengan ditunjukkan semakin tinggi konsentrasi Tween 80, maka semakin tinggi pula kadar total klorofil. Namun, konsentrasi Tween 80 dan interaksi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar total klorofil yang dihasilkan pada uji 5%. Hasil uji Duncan pengaruh jenis pelarut terhadap total klorofil daun kiambang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh jenis pelarut terhadap kadar total klorofil ekstrak kiambang

Jenis pelarut	Rerata	BJND 0,05
A1	15,735	b
A2	10,348	a

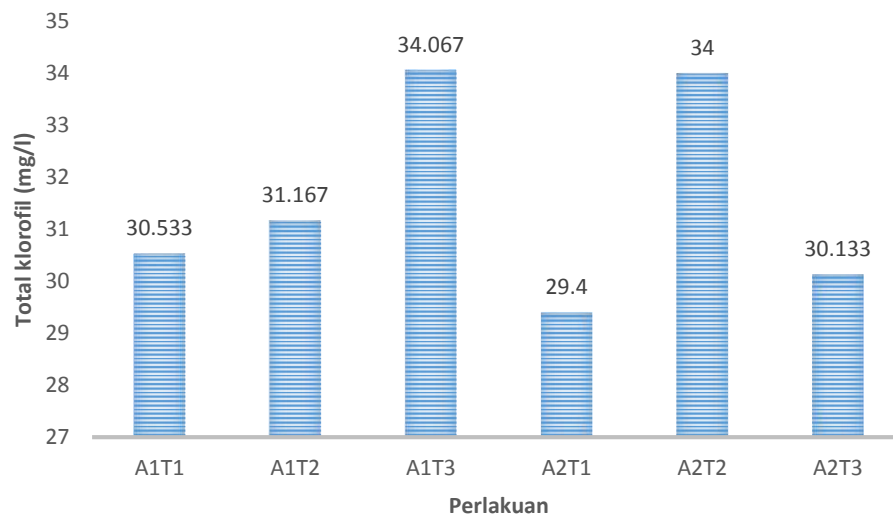
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata.

Hasil uji Duncan pada Tabel 1, memperlihatkan bahwa perlakuan jenis pelarut NaHCO_3 berbeda nyata dengan perlakuan jenis pelarut MgCO_3 . Hal ini disebabkan penggunaan konsentrasi yang berbeda antara NaHCO_3 dan MgCO_3 . Larutan NaHCO_3 merupakan larutan yang bersifat basa. Kondisi basa biasa diterapkan pada proses blansir sayuran berdaun hijau untuk mencegah degradasi klorofil menjadi feofitin yang berwarna kuning-coklat. Menurut Manurung (2011) degradasi klorofil pada jaringan sayuran dipengaruhi oleh pH. Pada media basa, klorofil lebih stabil, sehingga dapat menekan reaksi pembentukan feofitin yang berwarna hijau kecoklatan. Klorofil bersifat tidak stabil dan ion magnesium yang terdapat didalamnya dapat dengan mudah digantikan oleh ion hidrogen. Akibatnya warna sayuran yang semula hijau berubah menjadi kecoklatan karena terbentuknya feofitin (Muchtadi, 1992 *dalam* Wulansari, 2005).

3.2. Klorofil larut air

Prinsip perhitungan klorofil larut air adalah separasi antara pelarut (aseton dan petroleum eter), yaitu turunan klorofil yang bersifat polar (larut air) akan tetap berada pada lapisan aseton, setelah dilakukan penambahan petroleum eter pada ekstrak aseton, sedangkan klorofil yang bersifat non polar akan berpindah ke dalam lapisan petroleum eter. Cara ini biasa diterapkan untuk melihat aktivitas klorofilase yaitu dengan mengukur intensitas klorofilid yang terbentuk (Gross, 1991 *dalam* Prangdimurti, 2007).

Enzim klorofilase dapat menghidrolisis gugus fitol dari klorofil sehingga terlepas membentuk klorofilid. Penghilangan gugus fitol dari klorofil akan menghasilkan molekul klorofilid yang bersifat polar dan larut dalam air. Oleh karena itu banyaknya klorofil yang larut air dapat dilihat dari besarnya absorbansi lapisan aseton (Prangdimurti, 2007). Kadar klorofil larut air daun kiambang hasil penelitian disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Histogram Nilai Rata-rata Kadar Klorofil Larut Air Ekstra Kiambang

Hasil pengujian kadar klorofil larut air daun kiambang yang tertinggi pada perlakuan A2T3 yaitu sebesar 5,739 mg/L dan yang terendah pada perlakuan A1T1 sebesar 4,503 mg/L. Penggunaan NaHCO_3 , MgCO_3 serta peningkatan konsentrasi Tween 80 pada masing-masing perlakuan menunjukkan adanya peningkatan kadar klorofil larut air karena jenis pelarut dan Tween 80 masing-masing berperan mengubah klorofil menjadi klorofilid, sehingga rata-rata kadar klorofil larut air ekstrak kiambang yang dihasilkan mengalami peningkatan. Namun, berdasarkan analisis keragaman menunjukkan bahwa jenis pelarut, konsentrasi Tween 80 dan interaksi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar klorofil larut air pada taraf uji 5%.

Menurut Clydesdale *et al.* (1976) dalam Wulansari (2005) salah satu upaya untuk mempertahankan warna hijau dari jaringan tanaman antara lain dilakukan dengan cara mengubah klorofil menjadi klorofilid. Surfaktan atau detergen non-ionik mampu melindungi warna hijau seperti halnya penambahan MgCO_3 untuk membuat suasana alkali. Begitupun dengan Tween 80 yang merupakan deterjen non ionik yang juga berperan mengubah klorofil menjadi klorofilid yang larut air. Sejalan dengan yang dikemukakan oleh Prangdimurti (2007) Tween 80 dapat mempermudah kontak antara klorofil dengan enzim klorofilase. Klorofilase bekerja menghidrolisis gugus fitol klorofil sehingga mengubahnya menjadi klorofilid yang larut air.

3.3. Senyawa fitokimia

Fitokimia merupakan senyawa kimia yang bersifat aktif yang dihasilkan oleh tumbuhan. Kandungan senyawa fitokimia yang terdapat dalam suatu tanaman akan mempengaruhi manfaat tanaman tersebut. Uji kualitatif senyawa fitokimia daun kiambang hanya untuk mengetahui keberadaan atau ketiadaan senyawa fitokimia tersebut. Uji kualitatif senyawa fitokimia pada daun kiambang dilakukan dengan uji warna yang meliputi uji alkaloid, steroid, triterpenoid, fenol hidrokuinon, tanin, dan saponin. Hasil uji kualitatif senyawa fitokimia daun kiambang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Senyawa fitokimia ekstrak kiambang

Jenis Ekstrak	Alkaloid	Steroid	Triterpen	Fenol	Tanin	Saponin
A1T1	+	-	-	+	-	+
A1T2	+	-	-	+	-	+
A1T3	+	-	-	+	-	+
A2T1	+	-	-	+	-	+
A2T2	+	-	-	+	-	+
A2T3	+	-	-	+	-	+

Keterangan: (+) = Mengandung senyawa yang dimaksud; (-) = Tidak mengandung senyawa yang dimaksud

Berdasarkan uji kualitatif senyawa fitokimia daun kiambang menunjukkan bahwa semua perlakuan (A1T1, A1T2, A1T3, A2T1, A2T2, dan A2T3) mengandung senyawa alkaloid, fenol, dan saponin. Namun keberadaan steroid, triterpenoid, dan tanin tidak terdeteksi.

Senyawa fenol bersifat mudah larut dalam air dan berperan aktif sebagai antioksidan. Senyawa fenol merupakan kelas utama antioksidan yang berada dalam tumbuh-tumbuhan. Senyawa fenol dapat berfungsi sebagai antioksidan primer dikarenakan mampu menghentikan reaksi rantai radikal bebas pada oksidasi lipid (Kochar dan Rossell, 1990 *dalam* Diantriani, 2006). Senyawa fenolik memiliki efek yang penting pada stabilitas oksidasi dan keamanan mikrobiologi pangan, seperti aktivitas biologis yang berhubungan dengan efek penghambatan pada mutagenesis dan pembentukan karsinogen. Walaupun demikian, senyawa fenolik dalam jumlah yang besar dapat bersifat sebagai antinutrisi, sehingga perlu pertimbangan yang baik sebelum dikonsumsi (Yoga, 2008).

Larutan daun kiambang memberikan reaksi positif terhadap alkaloid dan saponin. Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom Nitrogen. Alkaloid seringkali beracun bagi manusia pada konsentrasi tinggi dan pada konsentrasi rendah dapat membantu kegiatan fisiologis, sehingga alkaloid dapat digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit, salah satunya untuk mengobati penyakit diare (Harborne, 1987).

Senyawa saponin sangat berperan bagi kesehatan manusia. Senyawa saponin memiliki berbagai macam efek farmakologi diantaranya sebagai hipoglikemik, menurunkan kadar kolesterol dalam darah, dan antifertilitas. Saponin merupakan faktor alami kekebalan tubuh dan antibodi yang lebih efisien dalam mengurangi peradangan hati, memicu sistem kekebalan tubuh untuk menurunkan frekuensi demam, flu, sembelit dan infeksi pencernaan yang disebabkan jamur dan kapang. (Anonymous, 2005 *dalam* Faradisa, 2008). Beberapa jenis saponin bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1995 hal 157 *dalam* Faradisa, 2008). Selain itu, saponin juga berperan mengobati penyakit jantung. Saponin akan memperkuat kontraksi otot jantung sehingga dapat bekerja lebih efisien pada penderita serangan jantung. Walaupun demikian, saponin menyebabkan keracunan pada dosis tinggi (Clark, 2004).

Ada beberapa senyawa fitokimia yang tidak terdeteksi pada daun kiambang yaitu tanin, steroid, dan triterpenoid. Tanin merupakan senyawa organik yang tergolong dalam gugus polifenol yang berperan sebagai antioksidan dan mempunyai sifat yang menjadi ciri khas, yaitu rasa pahit dan sepat serta bersifat sebagai asam lemah (Gandhi, 1991). Begitupun dengan steroid dan triterpenoid. Pada tanaman tingkat tinggi, steroid dikenal dengan fitosterol yang terdapat dalam bentuk bebas atau sebagai glukosida sederhana (Harborne, 1987). Steroid merupakan kelompok triterpenoid yang berhubungan erat dengan beberapa hormon dan keaktifan biologis lainnya. Pada dasarnya kandungan lemak dari kiambang sangat rendah sehingga senyawa-senyawa triterpenoid pada daun kiambang tidak terdeteksi. Menurut Prangdimurti (2007) keberadaan senyawa-senyawa triterpenoid ini memberikan kontribusi terhadap kandungan lemak dari sampel yang diuji.

3.4. Intensitas Warna

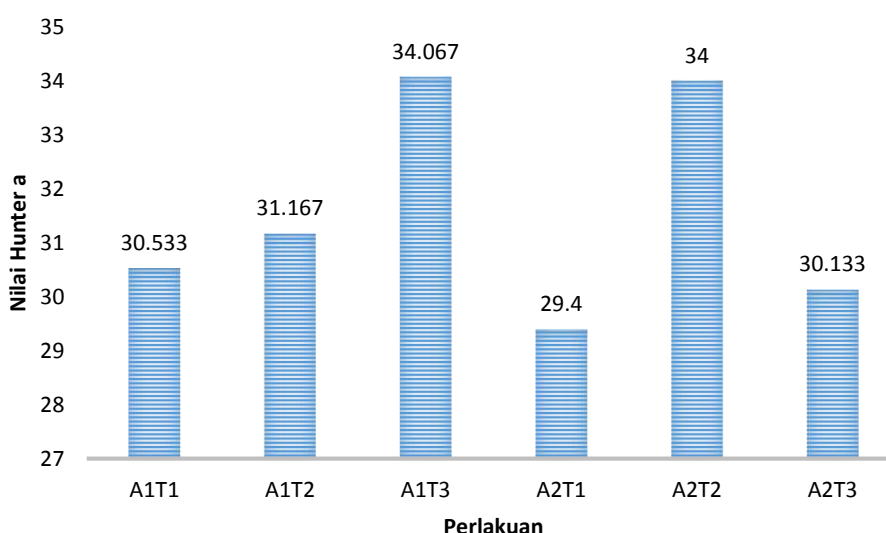
3.4.1. Nilai Hunter a

Nilai Hunter a adalah parameter umum yang digunakan untuk mengukur warna hijau (Clydesdale *et al.*, 1969 *dalam* Oktaviani, 1987). Semakin negatif nilai Hunter a, semakin hijau pula warnanya. Hasil pengujian intensitas warna nilai Hunter a daun kiambang yang tertinggi

pada perlakuan A1T3 yaitu sebesar -4,667 dan yang terendah adalah A1T1 sebesar -2,8. Nilai Hunter a daun kiambang dapat dilihat pada Gambar 3.

NaHCO_3 dan MgCO_3 merupakan larutan basa yang berperan melindungi warna hijau klorofil. Namun hasil analisis keragaman nilai Hunter a daun kiambang menunjukkan bahwa jenis pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap nilai Hunter a daun kiambang. Sedangkan konsentrasi Tween 80 dan interaksi antara konsentrasi Tween 80 dengan jenis pelarut memberikan pengaruh nyata terhadap nilai Hunter a daun kiambang yang dihasilkan pada uji 5%. Hal ini karena Tween 80 termasuk deterjen non ionik yang dapat menekan pembentukan feofitin. Menurut Yoga (2008) Tween 80 termasuk deterjen non ionik yang berfungsi menekan pembentukan feofitin pada klorofil. Hasil uji Duncan pengaruh konsentrasi Tween 80 terhadap nilai Hunter a daun kiambang dapat dilihat pada Tabel 3

Hasil uji Duncan pada Tabel 3, memperlihatkan bahwa penambahan Tween 80 1% tidak berbeda nyata dengan penambahan Tween 80 1,5 %, tetapi berbeda nyata dengan penambahan Tween 0,5%. Semakin tinggi konsentrasi Tween 80 dapat meningkatkan nilai Hunter a daun kiambang. Beberapa usaha untuk menstabilkan warna hijau dari jaringan tanaman antara lain dengan mengubah klorofil menjadi klorofilid. Pemberian surfaktan atau deterjen non ionik dapat membuat suasana alkali, sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim klorofilase mengubah klorofil menjadi klorofilid. Menurut Clydesdale dan Francis (1976) dalam Prangdimurti (2007) surfaktan atau deterjen non ionik mampu melindungi warna hijau dengan membuat suasana alkali.



Gambar 3. Histogram Nilai Rata-rata Nilai Hunter a Ekstrak Kiambang

Tabel 3. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh konsentrasi Tween 80 terhadap nilai Hunter a ekstrak kiambang

Konsentrasi T	Rerata	BJND 0,05
T1	-2,833	a
T2	-3,7	b
T3	-4,083	b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata.

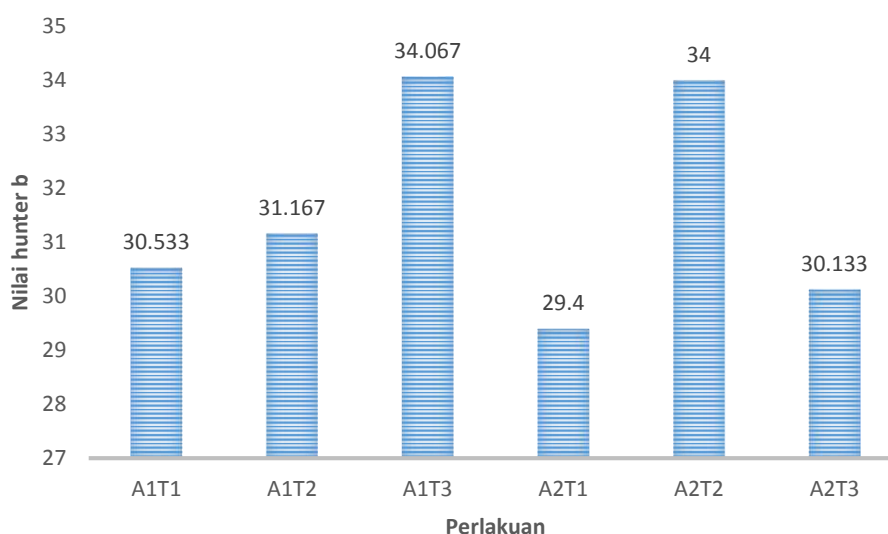
Pengaruh interaksi jenis pelarut dan konsentrasi Tween 80 terhadap nilai Hunter a daun kiambang menunjukkan bahwa perlakuan A2T2 berbeda nyata terhadap kombinasi perlakuan lainnya tetapi berbeda tidak nyata terhadap perlakuan A1T3. Hal ini diduga bahwa pemberian MgCO_3 0,03% dan Tween 80 1% dapat meningkatkan nilai Hunter a daun kiambang karena MgCO_3 dan Tween 80 ini keduanya bersifat basa yang dapat membantu

melindungi warna hijau klorofil. Dalam pembahasan sebelumnya telah disebutkan bahwa suasana alkali dapat melindungi warna hijau klorofil dari reaksi pembentukan feofitin yang berwarna kecoklatan. Menurut Winarno (1997) *dalam* Hutajulu *et al.* (2008) warna hijau alami ini dapat berubah menjadi hijau kecoklatan dan mungkin berubah menjadi coklat akibat substitusi magnesium oleh hidrogen membentuk feofitin. Reaksi dapat berjalan lebih lambat pada larutan dengan kondisi basa.

3.4.2. Nilai Hunter b

Nilai Hunter b menunjukkan besaran warna biru dan kuning. Semakin positif nilai b, warna semakin kuning sedangkan semakin negatif nilai b, warna semakin biru. Berdasarkan hasil pengamatan intensitas warna daun kiambang diperoleh nilai Hunter b daun kiambang yang tertinggi pada perlakuan A1T3 yaitu sebesar +14,6 dan yang terendah pada perlakuan A2T1 yaitu sebesar +6,1. Nilai Hunter b daun kiambang dapat dilihat pada Gambar 4.

Hasil analisis keragaman nilai Hunter b daun kiambang menunjukkan bahwa jenis pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap nilai Hunter b daun kiambang. Hal ini diduga sama dengan nilai Hunter a bahwa NaHCO_3 dan MgCO_3 merupakan larutan basa yang sama-sama berperan menjaga intensitas warna daun kiambang, sehingga diantara keduanya tidak terdapat perbedaan yang tidak begitu nyata. Sedangkan konsentrasi Tween 80 dan interaksi antara konsentrasi Tween 80 dengan jenis pelarut memberikan pengaruh nyata terhadap nilai Hunter b daun kiambang yang dihasilkan pada uji 5%. Hal ini karena penggunaan Tween 80 yang dapat menekan pembentukan feofitin dengan membuat suasana alkali. Hasil uji Duncan pengaruh konsentrasi Tween 80 terhadap nilai Hunter b daun kiambang dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 4. Histogram Rata-rata Nilai Hunter b Ekstrak Kiambang

Tabel 4. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh konsentrasi tween 80 terhadap nilai Hunter b ekstrak kiambang

Konsentrasi T	Rerata	BJND
T1	6,171	a
T2	10,717	b
T3	11,667	b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata.

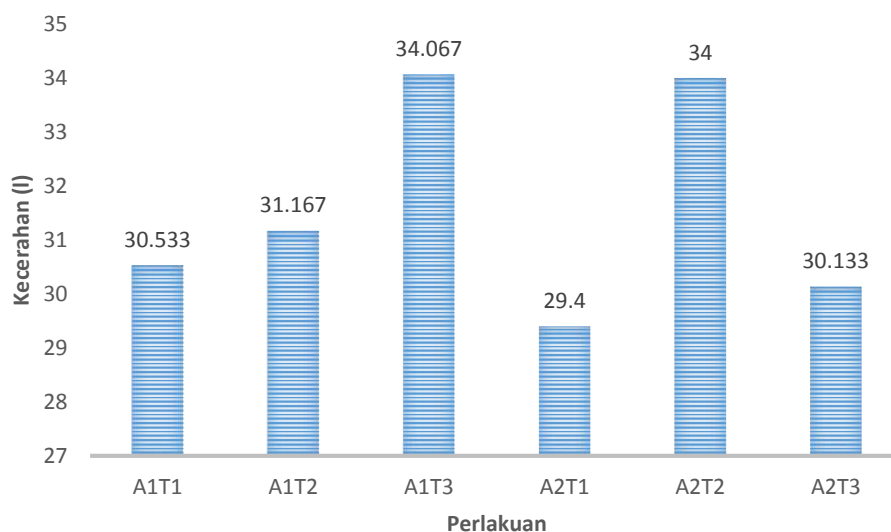
Hasil uji Duncan pada Tabel 4, memperlihatkan bahwa penambahan Tween 80 1% tidak berbeda nyata dengan penambahan Tween 80 1,5 %, tetapi berbeda nyata dengan

penambahan Tween 0,5%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi Tween 80, semakin tinggi pula nilai Hunter b daun kiambang.

Pengaruh interaksi jenis pelarut dan konsentrasi Tween 80 terhadap nilai Hunter b daun kiambang menunjukkan bahwa perlakuan A2T2 berbeda nyata terhadap kombinasi perlakuan lainnya tetapi berbeda tidak nyata terhadap perlakuan A1T3. Pada pembahasan sebelumnya telah dijelaskan bahwa A2T2 juga berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya dan berbeda tidak nyata terhadap perlakuan A1T3 dalam menghasilkan intensitas warna nilai Hunter a, begitupun dengan nilai Hunter b. Menurut Clydesdale (1969) dalam Oktaviani (1987) kombinasi nilai Hunter a yang semakin negatif dan nilai Hunter b yang semakin positif berkorelasi dengan penampakan visual yang baik. Nilai Hunter b secara tunggal menunjukkan warna kuning jika nilainya semakin positif. Hal ini berhubungan dengan kecerahan warna, karena dengan kombinasi warna hijau-kuning akan memberikan warna cerah, sedangkan kombinasi warna hijau-biru (nilai Hunter b negatif) akan memberikan warna yang gelap.

3.4.3. Kecerahan (L)

Kecerahan (*lightness* atau L) adalah parameter yang diukur untuk mengetahui apakah suatu produk berwarna cerah atau gelap. Menurut Clydesdale *et al.* (1969) dalam Oktaviani (1987) penampakan visual yang baik berkorelasi dengan nilai L yang tinggi. Semakin tinggi nilai L, warna produk semakin cerah. Hasil pengujian intensitas warna kecerahan (L) daun kiambang yang tertinggi pada perlakuan A1T3 yaitu sebesar 34,067, sedangkan kecerahan (L) daun kiambang yang terendah pada perlakuan A2T1 yaitu sebesar 29,4. Kecerahan (L) daun kiambang dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Histogram Rata-rata Tingkat Kecerahan (L) Ekstrak Kiambang

Hasil analisis keragaman kecerahan (L) daun kiambang menunjukkan bahwa jenis pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap kecerahan (L) daun kiambang. Hal ini diduga sama dengan nilai Hunter a dan Hunter b bahwa NaHCO_3 dan MgCO_3 merupakan larutan basa yang sama-sama berperan menjaga intensitas warna daun kiambang, sehingga diantara keduanya tidak terdapat perbedaan yang nyata. Sedangkan konsentrasi Tween 80 dan interaksi antara konsentrasi Tween 80 dengan jenis pelarut memberikan pengaruh nyata terhadap kecerahan (L) daun kiambang yang dihasilkan pada uji 5%. Hal ini karena Tween 80 termasuk surfaktan yang dapat menekan degradasi klorofil menjadi feofitin yang dapat mempengaruhi warna klorofil. Hasil uji Duncan pengaruh konsentrasi Tween 80 terhadap tingkat kecerahan (L) ekstrak kiambang dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh konsentrasi Tween 80 terhadap tingkat kecerahan (L) ekstrak kiambang

Konsentrasi T	Rerata	BJND 0,05
T1	29,967	a
T2	32,1	b
T3	32,583	b

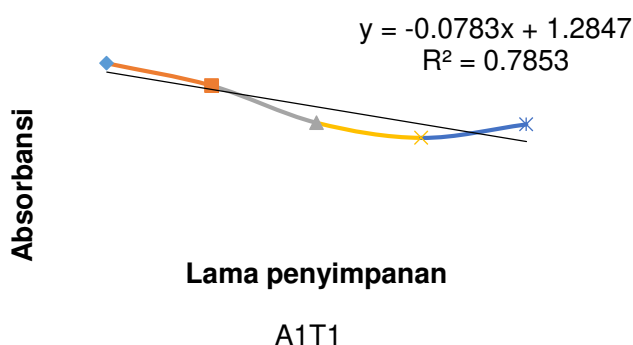
Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata

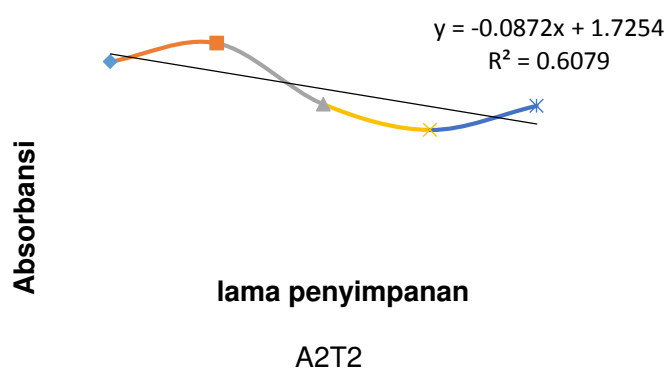
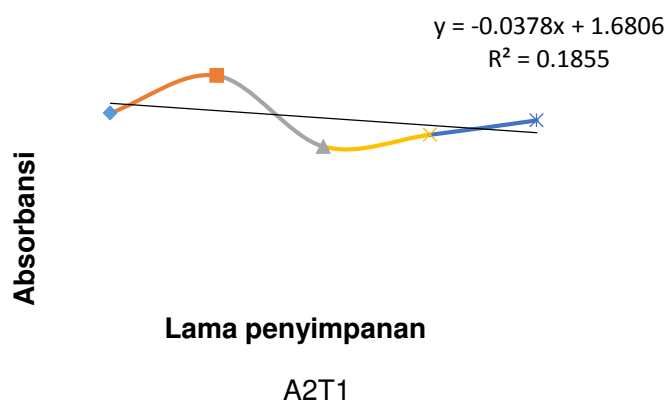
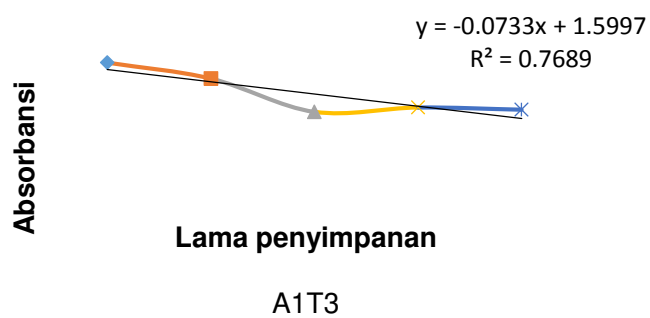
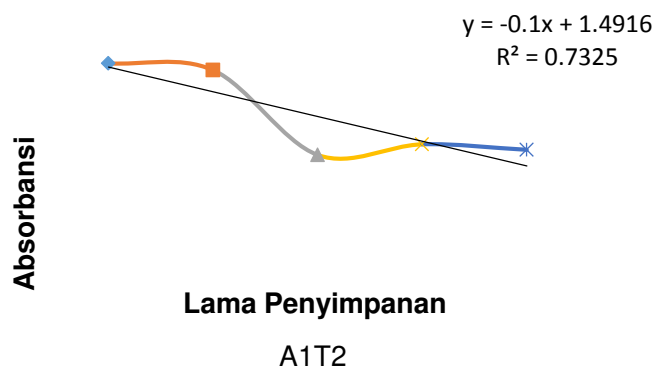
Hasil uji Duncan pada Tabel 6, memperlihatkan bahwa penambahan Tween 80 1% tidak berbeda nyata dengan penambahan Tween 80 1,5 %, tetapi berbeda nyata dengan penambahan Tween 80 0,5%. Peningkatan konsentrasi Tween 80 dapat meningkatkan kecerahan (L) daun kiambang, karena Tween 80 termasuk deterjen non ionik yang dapat menekan pembentukan feofitin. Menurut Winarno (1997) *dalam* Hutajulu *et al.* (2008) reaksi pembentukan feofitin dapat berjalan lebih lambat dalam suasana basa.

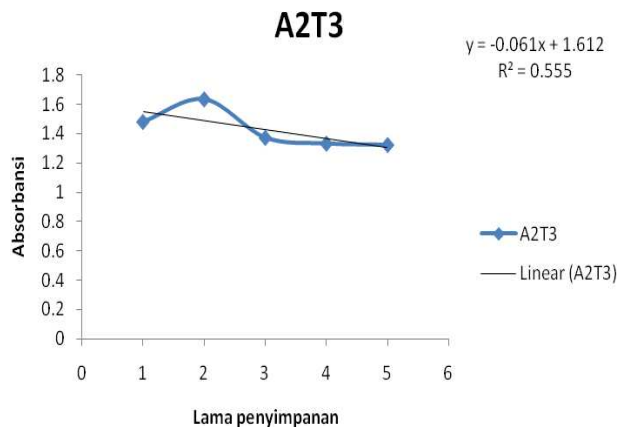
Pengaruh interaksi jenis pelarut dan konsentrasi Tween 80 terhadap kecerahan (L) daun kiambang menunjukkan bahwa perlakuan A2T2 berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan A1T3. Semakin rendah nilai kecerahan menunjukkan bahwa warna semakin tidak baik. Diduga hal ini karena terjadi pembentukan turunan-turunan pigmen yang berwarna gelap sebagai akibat degradasi lanjutan dari feofitin. Dengan terbentuknya turunan pigmen yang berwarna gelap, perbandingan sinar yang direfleksikan dengan sinar yang diserap menjadi lebih kecil sehingga nilai kecerahan juga semakin rendah (Pomeranz *et al.*, 1978 *dalam* Oktaviani, 1987).

3.5. Kestabilan warna

Pengamatan kestabilan warna larutan daun kiambang dalam penyimpanan pada suhu ruang, dilakukan selama 1 bulan (0,1, 2, 3, 4 minggu). Sampel diambil dari botol yang sama dan diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 652 nm. Berdasarkan hasil pengamatan selama 1 bulan terlihat pada Gambar 6.







Gambar 6. Pengaruh lama penyimpanan pada suhu kamar terhadap kestabilan warna ekstrak kiambang

Hasil pengamatan seperti terlihat pada Gambar 6, nilai absorbansi zat warna daun kiambang pada minggu ke-1 penurunannya tidak terlalu tinggi. Lain halnya pada penyimpanan selama 2-minggu nilai absorbansi mengalami penurunan yang tajam, sedangkan pada penyimpanan 3-minggu dan 4-minggu mengalami penurunan yang tidak berarti. Berdasarkan grafik analisis regresi linier kestabilan warna larutan daun kiambang pada Gambar 14, menunjukkan bahwa perlakuan A1T3 yang lebih stabil dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini dilihat dari nilai *slope* yang kecil dengan membentuk garis linier yang lebih landai dan nilai korelasi yang tinggi. Diduga hal ini terjadi karena adanya pembentukan feofitin. Pembentukan feofitin selama penyimpanan terjadi karena dipengaruhi oleh asam yang terdapat dalam jaringan tanaman. Menurut White *et al.* (1963) dalam Oktaviani (1987) pada umumnya jaringan tanaman bersifat asam dan pembentukan feofitin akan terjadi meskipun dalam kondisi asam yang lemah. Lin *et al.* (1971) dan Clydesdale *et al.* (1972) dalam Oktaviani (1987) menunjukkan bahwa asam tidak dilepaskan oleh jaringan tanaman, tetapi terbentuk selama penyimpanan dan pemanasan. Asam-asam yang terbentuk adalah asam asetat dan asam pirolidon karboksilat.

Selain itu, larutan daun kiambang disimpan dalam botol pada kondisi aerobik, sehingga degradasi feofitin diduga dapat terjadi. Menurut Walker (1963) dalam Oktaviani (1987) selama penyimpanan ada dua bentuk degradasi klorofil, yaitu degradasi klorofil membentuk feofitin dan selanjutnya degradasi feofitin itu sendiri. Dikatakan lebih lanjut bahwa degradasi klorofil dan feofitin tidak akan terjadi pada ekstrak klorofil yang disimpan pada kondisi anaerobik. Selain itu, pada umumnya jaringan tanaman bersifat asam dan pembentukan feofitin akan terjadi meskipun dalam kondisi asam yang lemah (White *et al.*, 1963 dalam Oktaviani, 1987).

4. Kesimpulan dan Saran

4.1. Kesimpulan

1. Penggunaan NaHCO_3 0,5% menghasilkan kadar total klorofil yang lebih banyak daripada MgCO_3 0,03%.
2. Penambahan Tween 80 1% menunjukkan intensitas warna (Hunter a, Hunter b, dan kecerahan) yang paling baik.
3. Kombinasi perlakuan A2T2 (MgCO_2 0,03% dan Tween 80 1%) menunjukkan nilai intensitas warna yang baik.
4. Senyawa fitokimia yang terdapat pada daun Kiambang adalah alkaloid, fenol, dan tanin.
5. Perlakuan A1T3 (NaHCO_3 0,5% dan Tween 80 1,5%) memiliki warna yang lebih stabil pada penyimpanan selama 4 minggu pada suhu ruang kondisi aerobik.

4.2. Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah untuk mendapatkan kandungan klorofil tertinggi sebaiknya menggunakan kombinasi perlakuan NaHCO_3 0,5% dan Tween 80 1,5%. Untuk penelitian lebih lanjut, dapat dilakukan proses pelarutan klorofil dengan perlakuan kontrol sebagai pembanding, uji kuantitatif terhadap senyawa fitokimia yang terdeteksi pada daun kiambang, analisa antioksidan daun kiambang, pengamatan kestabilan warna daun kiambang selama penyimpanan pada kondisi anaerobik dan aplikasi klorofil daun kiambang menjadi pewarna alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrisandy, D. 2008. Kandungan Klorofil dan Senyawa Fitokimia Ekstrak Mata Lele (*Azolla sp*) [skripsi]. Indralaya: Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.
- Clark, T.J., 2004, Saponin. (online) www.marz.kAreations.com.wildplants.CRYO/Doccs/Silvu, diakses 4 Mei 2011.
- Diantriani, V. 2006. Aktivitas Antioksidan Daun terung Pucuk (*Solanum macrocarpon* L.) [skripsi]. Indralaya: Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.
- Faradisa, M. 2008. Uji Efektifitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Batang Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn) [skripsi]. Malang: Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang.
- Gandhi, M. 1991. Identifikasi Gugus Fungsional senyawa Tanin Aktif Anti Bakteri dari Akar senggani (*Melastoma polyanthum* Blume. Radix) [skripsi]. Indralaya: Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya.
- Harborne, J.B. 1987. Phytochemical Methods. Diterjemahkan oleh Padmawinata K dan Soediro I. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi kedua. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hutajalu, T.F., Hartanto, Subagia. 2008. Proses Ekstraksi Zat Warna Hijau Klorofil Alami untuk Pangan dan Karakteristiknya. *J Riset Industri* 2(1):44-45.
- Manurung, P. 2011. Pigmen Klorofil Daun Katuk dan Aplikasinya sebagai Zat Pewarna Alami (online) (<http://breanmanurung.wordpress.com/2011/02/26/pigmen-klorofil-daun-katuk-dan-aplikasinya-sebagai-zat-pewarna-alami/> diakses 23-03-2011).
- Oktaviani, L. 1987. Perubahan-Perubahan yang Terjadi pada Ekstrak Warna Hijau Daun Suji (*Pleomele angustifolia*) Selama Penyimpanan [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Prangdimurti, E. 2007. Kapasitas Antioksidan dan Daya Hipokolesterolemik Ekstrak Daun suji (*Pleomele angustifolia* N.E.Brown) [disertasi]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Rozak, M dan Hartanto, U. 2008. Ekstraksi Klorofil dari Daun Pepaya dengan Solvent 1-Butanol [skripsi]. Semarang: Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Wulansari, K. 2005. Studi Kemampuan Pengikatan Kolesterol oleh Ekstrak Daun Suji (*Pleomele angustifolia* N. E. Brown) dalam Simulasi system Pencernaan *In Vitro* [skripsi]. Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Yoga, I. 2008. Identifikasi Komponen Pembentuk Gel (KPG) dan Potensi Antioksidan Daun Kacaping (*Gardenia jasminoides* Ellis) [tesis]. Bogor: IPB.